

Canales de Agua (Aquaporinas) y Riñón

CS Hernández¹, AM Gutiérrez¹, V Ruiz¹, E González², M Echevarría³ y G Whitembury¹.

1. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.
2. Facultad de Medicina, UCV, Caracas, Venezuela.
3. Facultad de Medicina, U. de Sevilla, España.

RESUMEN

Revisamos brevemente algunos aspectos del movimiento de agua en las células renales. Primero se muestran estudios de Biofísica que llevan a concluir que existen poros acuosos perforando las membranas celulares de los túbulos renales proximales; y a poder calcular las dimensiones del filtro de selectividad de un “canal equivalente” para el paso de agua de $\sim 4.5 \text{ \AA}$ de diámetro y de una longitud equivalente de $\sim 10 - 20 \text{ \AA}$. Como las moléculas de agua tienen un diámetro de 3 \AA , sólo 4 a 6 moléculas de agua pueden acomodarse en fila india dentro del filtro de selectividad. Estudios de biología molecular han aclarado la secuencia de aminoácidos de las proteínas (de 28 kD) que forman el canal. Se denominan Aquaporinas (AQPs). Se conocen unas 10. Revisamos la estructura tridimensional de AQP-1, presente en los túbulos renales proximales. También la relación entre diabetes insípida y AQP-2, en que hay mala función de los mecanismos de concentración urinaria. Finalmente se hace un árbol filogenético de las AQPs en donde se ve que hay AQPs muy antiguas en bacterias, plantas e insectos. La RP-mip una AQP de los túbulos de malpighi del *Rhodnius* es de las más antiguas de la escala biológica. Las AQPs de mamífero son mucho más recientes.

Palabras Clave: Aquaporinas, Canales acuosos, Poros acuosos, Transporte de agua, Agua y riñón, Diabetes insípida.

ABSTRACT

This is a short overview of some aspects of water movements across kidney cells. It begins with the biophysical methods that lead to the conclusion that there are indeed water channels piercing the kidney proximal tubule cell membranes. These methods allow to calculate (a) the diameter

of the selectivity filter of an “equivalent water channel” of $\sim 4.5 \text{ \AA}$, and (b) its “equivalent length” of $\sim 10 - 20 \text{ \AA}$. (c) As water molecules have a diameter of 3 \AA , water molecules must line up within the selectivity filter as an Indian file 4 to 6 molecules long. Molecular biology studies have uncovered the aminoacid sequence of the 28 kD protein molecules that form the water channels. They are called Aquaporins (AQPs). Some 10 are known. AQP-1 is present in the kidney proximal tubule. The tri-dimensional AQP-1 structure is reviewed, and the relation between diabetes insipidus and genetic structural failures of AQP-2 which lead to malfunction of the urinary concentrating mechanisms. Finally we review the molecular structure of a newly found AQP called RP-mip, which is present in *Rhodnius prolixus* malpighian tubules. A phylogenetic tree indicates it to be one of the oldest AQPs. Mammalian AQPs are more recent in the biological scale.

Key Words: Aquaporins, Water channels, Water pores, Water transport, Kidney water transport, Diabetes insipidus.

INTRODUCCIÓN

Hace casi un siglo se propuso que pudieran haber canales de agua en la membrana de las células en general⁽²⁾. En la década de los 60, evidencia biofísica mostró que los canales de agua de los eritrocitos eran proteínas que forman un poro cuya permeabilidad se inhibe con reactivos mercuriales (que actúan sobre grupos sulfidrilos)^(6,28,29). En la década de los 80, se demostró el canal de agua en células del túbulo renal proximal (TRP)⁽³²⁾. En los 90 se descubrió la secuencia de aminoácidos de estos canales, denominados Aquaporina-1 (AQP-1), en eritrocitos y TRP⁽²⁵⁾. Hasta ahora se han descrito más de diez Aquaporinas (AQPs) en numerosas células de la naturaleza⁽¹⁸⁾.

En esta breve revisión, que esperamos sea didáctica, describiremos: (1) La biofísica del canal o poro de AQP-1 de TRP para medir su filtro de selectividad (FS), esto es su parte más discriminativa, con las siguientes características: (a) un diámetro equivalente (d_p) de $\sim 4.5 \text{ \AA}$, y una longitud de ~ 10 a 20 \AA por el FS sólo pasan 4 a 6 moléculas de agua (con un diámetro, $d_m =$

3.0 Å) alineadas en fila india. Estos estudios han sido confirmados con difracción con electrones de cristales bidimensionales de AQP-1 que detallan la estructura molecular de AQP-1. (2) Características moleculares y funcionales de la AQP-1 que interviene en la regulación del volumen celular fundamentalmente. (3) Localización y función de la AQP-2 y su fisiopatología relacionada con la acción de la hormona antidiurética (ADH), los mecanismos de concentración de la orina, la diabetes insípida, y con las AQP-3 y AQP-4. (4) Una nueva Aquaporina denominada **RP-mip** presente en los túbulos de Malpighi del insecto hematófago *Rhodnius prolixus*, que interviene en la secreción de la orina en los insectos, evolutivamente muy antigua y nos aclara un “árbol genealógico” comparativo de la evolución en la escala biológica de algunas de las AQPs descritas hasta ahora.

En esta breve nota, sólo revisamos estructuras relacionadas con los movimientos de agua a través de la membrana de las células epiteliales de algunos segmentos del riñón. Limitamos el número de referencias, que pueden completarse en revisiones extensas^(18,26,30,36,37). Los movimientos transepiteliales (esto es aquellos que ocurren a través de toda la pared del túbulo renal) se pueden revisar en^(36,37).

BIOFÍSICA DEL CANAL DE AGUA

Los movimientos de agua entre el exterior celular y el citosol ocurren a través de la membrana celular que es de naturaleza lipídica. El agua puede atravesarla ya sea difundiendo por entre las cadenas lipídicas que la forman y/o moviéndose a través de vías especiales de naturaleza proteica, denominadas canales o poros acuosos ([Figura 1](#))^(2,7). Teóricamente, no se necesitan canales de agua, si la bicapa lipídica es de tal naturaleza que el movimiento de agua a través de ella es rápido y eficiente⁽⁷⁾. Históricamente, primero se estudiaron los eritrocitos^(6,8,28,29). Porque, por ejemplo, en las membranas de las células del TRP, el movimiento de agua es tan rápido que sólo hace 20 años se logró desarrollar métodos precisos para registrar los cambios de volumen celular y poder estudiar este problema^(1,9,32,35).

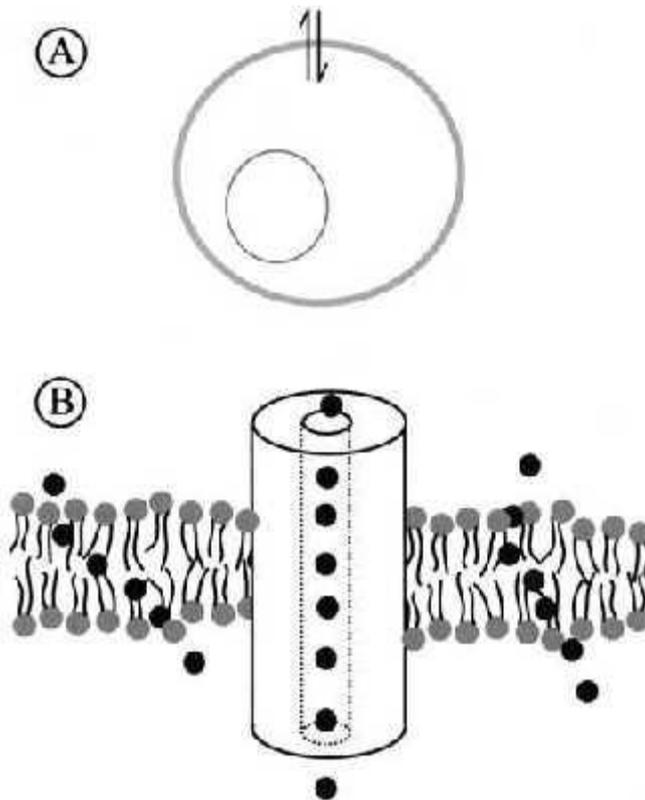


Figura 1: A. Esquema de una célula con los movimientos de agua entre citosol y medio extracelular, y viceversa. B. Las moléculas de agua (círculos) pueden saltar por entre las cadenas de las moléculas de lípidos que forman la bicapa y/o pueden moverse en el interior de moléculas que forman un canal especial, a lo largo de él.

En esos estudios^(32,35), se indujeron diferencias en la presión osmótica a través de la membrana celular con solutos impermeables (gradientes de osmolalidad) para estudiar la velocidad de los cambios de volumen celular (velocidad de los movimientos de agua a través de la membrana celular). También se estudió la dependencia de la temperatura de la velocidad de los movimientos de agua para calcular su energía de activación, E_a o Q_{10} . Este parámetro indica el grado de interacción entre el movimiento de una molécula de agua y el medio que la rodea^(2,7,16,31). Después de exhaustivo análisis se demostró que: (a) La velocidad de los movimientos de agua era alta. (b) La E_a o el Q_{10} de la velocidad de los movimientos de agua era comparable a la de los movimientos de agua en agua libre (cerca de 4 kcal/mol), indicando discreta interacción entre las moléculas de agua que están atravesando la membrana celular y la membrana misma^(7,16,31). (c) Cuando se usaron

reactivos mercuriales (como el para-cloro mercuri fenil sulfonato) que se sabe reaccionan con los grupos sulfidrilo de las proteínas, la velocidad del movimiento de agua se inhibió a un 10% del valor hallado en la situación descrita en (a). (d) En esas circunstancias la E_a de los movimientos era cerca de 10 kcal/mol indicando un alto grado de interacción entre el agua que atravesaba las membranas celulares y la bicapa lipídica, como el que se había observado en sistemas artificiales formados exclusivamente por bicapas lipídicas sin canales especiales^(7,16,31). (e) Las observaciones (c) y (d) se revertían (a la situación descrita en (a) y (b)) con el uso de ditioneitol, un reactivo que reduce grupos sulfidrilos. Se concluyó (i) que en las membranas peritubulares de las células del TRP el 90% del movimiento acuoso secundario a un gradiente osmótico era por canales o poros acuosos protéicos, porque este movimiento era afectado por los reactivos mercuriales de grupos sulfidrilos, porque el agua se movía con poca interacción con las membrana que atravesaba; (ii) que un 10% del movimiento ocurría por la bicapa lipídica, porque la interacción entre agua y membrana era muy alta, reflejada por la alta E_a ^(7,16,31). Por consiguiente habían canales acuosos atravesando las membranas de las células de TRP⁽³²⁾ como que se habían descrito en las membranas de los glóbulos rojos^(6,28,29).

FILTRO DE SELECTIVIDAD (FS) DE LOS CANALES DE AGUA

Se denomina FS de un canal a la parte de éste que le permite discriminar entre las moléculas o iones que pueden discurrir en su interior para atravesarlo en longitud y las moléculas o iones que no lo pueden hacer⁽¹⁵⁾.

Para estudiar el FS de los canales de agua usamos dos enfoques complementarios: a) Usamos técnicas de “tamizado molecular” para estudiar el diámetro equivalente (d_p) del poro acuoso⁽⁸⁾. Brevemente, un líquido extracelular con 295 mOsm/kg es isosmótico con las células de los TRP de mamífero. Produjimos gradientes de osmolalidad a través de la membrana peritubular de

TRP de conejo cambiando el líquido peritubular por uno hiperosmótico (en 35 mOsm/kg) preparado añadiendo al baño isosmótico de 295 mOsm/kg, 35 mOsm/kg de no-electrolitos de peso (y tamaño) molecular graduado. Esto debiera encoger las células. Efectivamente, (i) se encontró que rafinosa, sacarosa, manitol, glicerol, acetamida y urea (con pesos moleculares respectivamente de 504, 342, 180, 92, 59 y 60 D, y diámetros moleculares en la dimensión menor, d_m , de 11.8, 9.0, 8.0, 5.0, 4.5 y 4.3 Å) encogían las células con movimientos de agua de la misma velocidad, a pesar de su distinto d_m . Esto es, el comportamiento celular ante la hiperosmolaridad producida por estas moléculas era idéntico. Además probamos la molécula más pequeña, formamida (F), de peso molecular 45 D y $d_m = 3.9$ Å. (ii) Se encontró que F producía mucho menor encogimiento celular y a mucha menor velocidad^(10,33,34). (iii) Además se encontró que se necesitaba producir una hiperosmolaridad peritubular con 220 mOsm/kg de formamida (osmolalidad total, 515 mOsm/kg) para producir un encogimiento celular parecido al producido por 35 mOsm/kg de las otras moléculas^(33,34). Esta es una concentración de formamida 6 veces mayor que la de las otras moléculas. (iv) Ecuaciones de tamizado molecular permitieron calcular un $d_p \sim 4.5$ Å^(10, 33, 34). El diámetro de la molécula de agua es $d_w = 3.0$ Å. Por consiguiente dos moléculas de agua no pueden estar una al lado de la otra, sino que deben colocarse en fila india por la parte más “angosta” del canal, para poder moverse a lo largo de él⁽¹¹⁾. Esta sería la parte del canal es la que realmente selecciona o discrimina entre las moléculas, dejando pasar unas y reteniendo otras que no pasan. Es el filtro de selectividad (FS) que se esquematiza en la [Figuras 2 y 3](#). b) Las teorías de la osmosis conciben que las partículas que ejercen la “presión osmótica” no penetran el poro o canal acuoso^(12,16,22). En la última década se ha propuesto la “teoría bimodal de la osmosis” que estudia la posibilidad que las partículas penetren los canales y difundan a lo largo de ellos^(13,14). Este sería el caso de la formamida (F) en nuestros experimentos. De acuerdo con esta teoría (F) difundiría dentro del canal. Esta teoría nos permite calcular la longitud (Δx) del filtro de selectividad dentro del canal de agua. Nuestros datos^(33,34) permiten concluir que el FS es de tal longitud que se pueden alinear en fila india, de 4 a 6 moléculas de agua dentro del canal. Como $d_w = 3.0$ Å, Δx debe ser ~ 12 a 18 Å, si las moléculas de agua se tocaran unas con otras, esto es, si no hubiere espacio entre las moléculas de agua dentro del FS; Δx sería un poco más largo, ~ 15 a 20 Å, si lo

hubiere. Por razones prácticas, usamos $\Delta x \sim 10\text{-}20 \text{ \AA}$ como promedio. Obviamente las zonas de “entrada” y de “salida” del canal deben ser de mayor diámetro y de una longitud que no se puede conocer con estos métodos (Fig. 3)^(33,34). En las publicaciones originales se calculó Δx de la mitad de la longitud del FS^(33,34). c) Estas dimensiones del canal de agua plantean varios interrogantes. (i) Los iones hidrógeno (protones), sodio y potasio (H^+ , Na^+ , K^+) son más pequeños que las moléculas de agua⁽¹⁵⁾; sin embargo, son rechazados por el canal de agua y no pasan por él. Por qué?Cuál es el mecanismo de exclusión?. (ii) Por la alta densidad de canales de agua, se puede calcular que debe haber un canal de agua por cada 100 \AA lineales (ó 1 por cada 10000 \AA^2) de superficie de membrana celular. Esto deja poco sitio para la ubicación de otras proteínas que no tendrían cabida en la membrana celular. Hay alguna explicación? Más abajo se planean posibles respuestas.

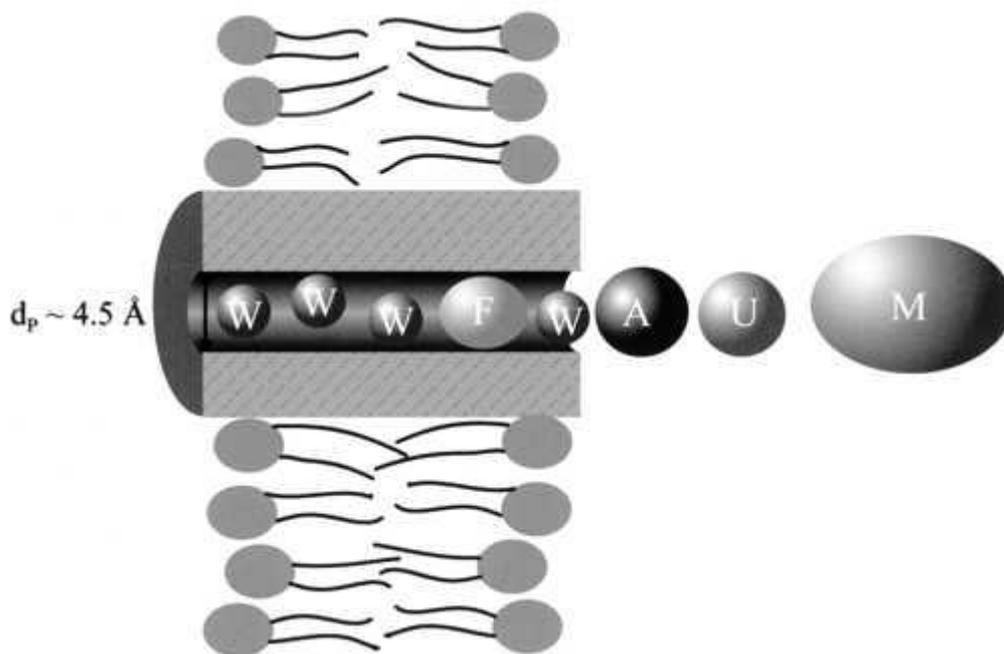


Figura 2: Esquema del poro o canal de agua insertado en la bicapa lipídica.

Esquema del poro o canal de agua insertado en la bicapa lipídica que muestra que moléculas como manitol (M), urea (U), y acetamida(A) son discriminadas por tamaño, pues su diámetro molecular (dm), es mayor que el del poro ($dm > dp$), excepto la formamida (F, $dm \sim 3.9 \text{ \AA}$), que siendo pequeña ($dm < dp$) penetra y atraviesa el poro. Las moléculas de agua (W) (diámetro molecular $dw = 3 \text{ \AA}$), se muestran como esferas a escala. También se probaron, pero no se muestran, glicerol, rafinosa y sacarosa, en las que también $dm > dp$. En este esquema simple todo el poro se muestra como un cilindro equivalente $dm = 4.5 \text{ \AA}$. Modificado de(10).

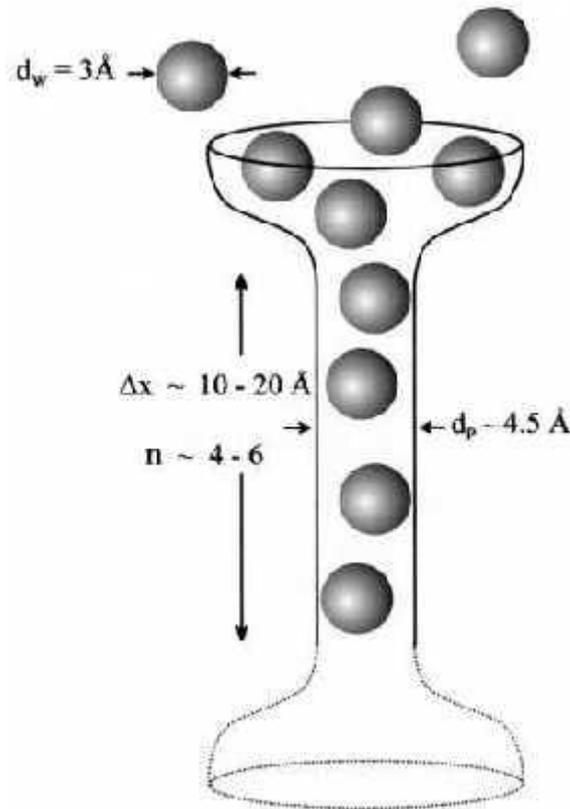


Figura 3: Esquema que muestra el canal de agua

Esquema que muestra el canal de agua incluyendo el concepto de filtro de selectividad (FS) con diámetro equivalente $d_p = 4.5 \text{ \AA}$; longitud, $Dx \sim 10 - 20 \text{ \AA}$, y moléculas de agua (como esferas) con diámetro $d_w = 3.0 \text{ \AA}$. Las partes de mayor diámetro en forma de copa corresponden a las zonas de entrada y/o salida del canal en la región de la proteína que se abre al espacio extracelular y al citosólico. En las publicaciones originales(33,34) los cálculos usando la teoría bimodal de la osmosis se refieren, senso stricto, a la mitad extracelular del canal. Como en esta figura se dibuja el canal completo, el valor de $Dx \sim 10 - 20 \text{ \AA}$ es el doble que en(33,34).

ESTRUCTURA MOLECULAR DE LOS CANALES

Agre y sus colaboradores⁽²⁵⁾ dieron un paso gigantesco en el conocimiento de los poros acuosos al identificar, determinar la secuencia completa de aminoácidos y clonar la proteína de los canales de agua de los glóbulos rojos y de las células del TRP (pues es la misma proteína). Al principio denominaron esta proteína, MIP 28 por su peso molecular (28 KD) y porque tiene la estructura de un grupo de proteínas llamadas “membrane integral proteins” (abreviadas MIP) que forman un grupo de proteínas muy antiguas, constitutivas de las membranas celulares. Luego se decidió llamar Aquaporinas (AQPs) a las MIP que forman canales de agua. (I) La [Figura 4](#) es

un esquema detallado de la AQP-1. Puede verse que: (a) AQP-1 es una proteína formada por 2 mitades en tandem (una tras otra). (b) Tiene 6 segmentos transmembranales, que se numeran del 1 al 6. Comenzando en el grupo amino-terminal, la primera mitad del tandem está formada por los segmentos 1, 2 y 3; y la segunda, muy parecida, por los segmentos 4, 5 y 6. Sigue el grupo carboxi-terminal. (c) Cinco asas (denominadas A, B, C, D y E) conectan los 6 segmentos. (d) A, C y E son extracelulares, B y D intracelulares. (e) Las dos asas largas, B y E, se doblan hacia el interior de la bicapa (B desde el lado citosólico y E desde el extracelular) y se enlazan para formar el filtro de selectividad FS ([Figura 5](#)). (f) Hay tres aminoácidos seguidos en el asa B y en la E, asparragina, N; prolina, P; y alanina, A (uno tras otro), que caracterizan las MIP y forman el FS. (g) Aunque la AQP-1 tiene varias cisteínas, la cisteína 189 (C-189) que está en el asa E, es el sitio de acción del agente mercurial al que nos hemos referido antes. (h) Cuatro moléculas de AQP-1 forman un tetrámero en el que cada molécula es permeable al agua, constituyendo un canal de agua independiente. Esto es, el tetrámero tiene 4 veces la permeabilidad del monómero. Pero, al estar 4 AQP-1 juntas, hay más sitio para que se alojen otras proteínas en las membranas celulares del TRP, lo que aclara uno de los interrogantes planteado arriba en relación al sitio libre para otras proteínas^(10,32,33,34). (II) Recientemente la AQP-1 se ha incorporado y estudiado, *in vitro*, en bicapas lipídicas artificiales⁽²⁷⁾. (b) La AQP-1 cristaliza en dos dimensiones. Forma monocapas que están siendo estudiadas por difracción de electrones, cada vez con mejor resolución⁽²³⁾. En la [Figura 6](#) se usa esta información. Se muestra cómo sería el FS de AQP-1. Las cargas parciales de las asparraginas N76 y N192 restringirían la orientación de las moléculas de agua que están pasando por dentro del FS al formar puentes de hidrógeno con ellas. Esto impediría que los protones (H⁺) que por su tamaño son suficientemente pequeños como para permear el FS, pasen por él^(23,27). Esto diferencia la AQP-1 de los canales de

Gramicidina A que si conducen protones, por lo que se llama el mecanismo de cadena Grotthus, a pesar de tener un FS de menor diámetro que la AQP-1⁽⁷⁾.

Se acaban de estudiar las consecuencias de ausencia completa de AQP-1 en la función de concentración urinaria⁽¹⁹⁾.

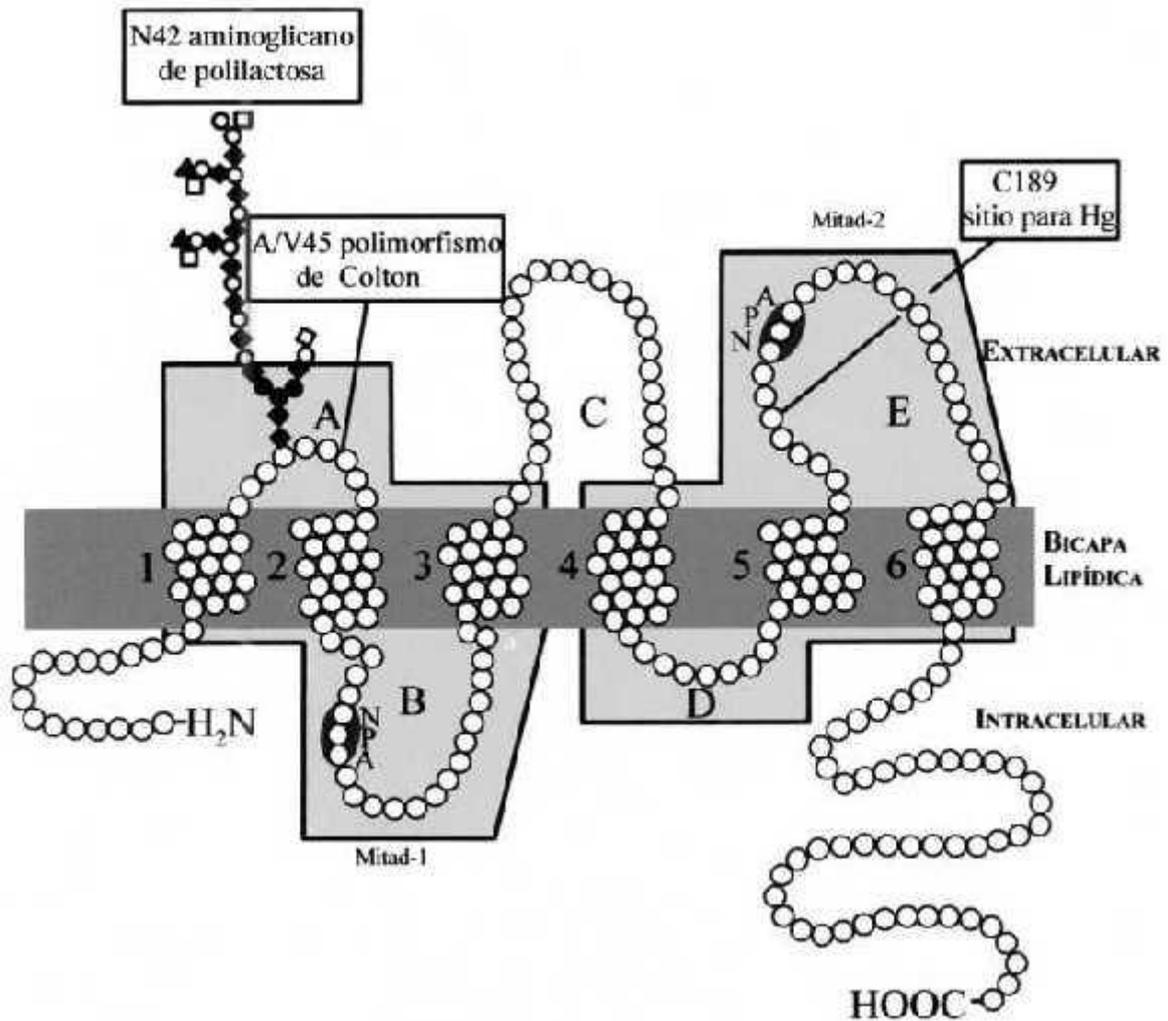


Figura 4: Esquema bidimensional de AQP-1

De izquierda a derecha se muestran el grupo amino-terminal (citósólico), luego tres segmentos transmembranales 1, 2 y 3 que forman la mitad 1 del tandem, que termina con los segmentos 4, 5 y 6 (mitad 2 del tandem, en cierto modo "invertida" en relación a la mitad 1). Las asas B y E conteniendo las secuencias NPA (ver texto), se introducen en la bicapa, desde el lado intra- (B) y extra-celular (E), respectivamente, para formar el filtro de selectividad (FS, Fig. 5). El agente mercurial actúa en la Cisteína 189. Se marcan el sitio de glicosilación y el del polimorfismo Colton. Modificado de(25).

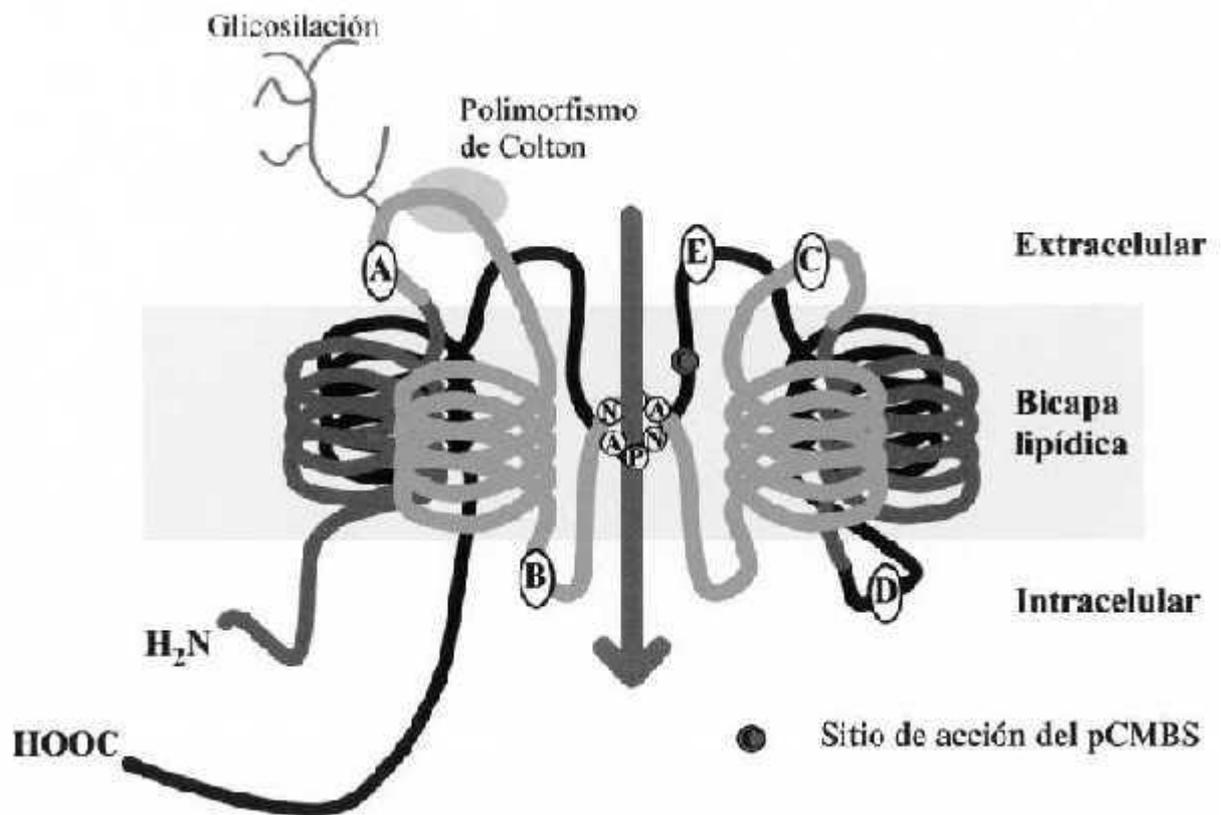


Figura 5: Simplificación en “tres dimensiones” de la AQP-1

Se ilustra el enlace de las asas B y E para formar el filtro de selectividad (FS). C, Cisteína 189, sitio de acción del agente mercurial. Se marca el sitio del polimorfismo Colton. No se numeran los segmentos transmembranales.

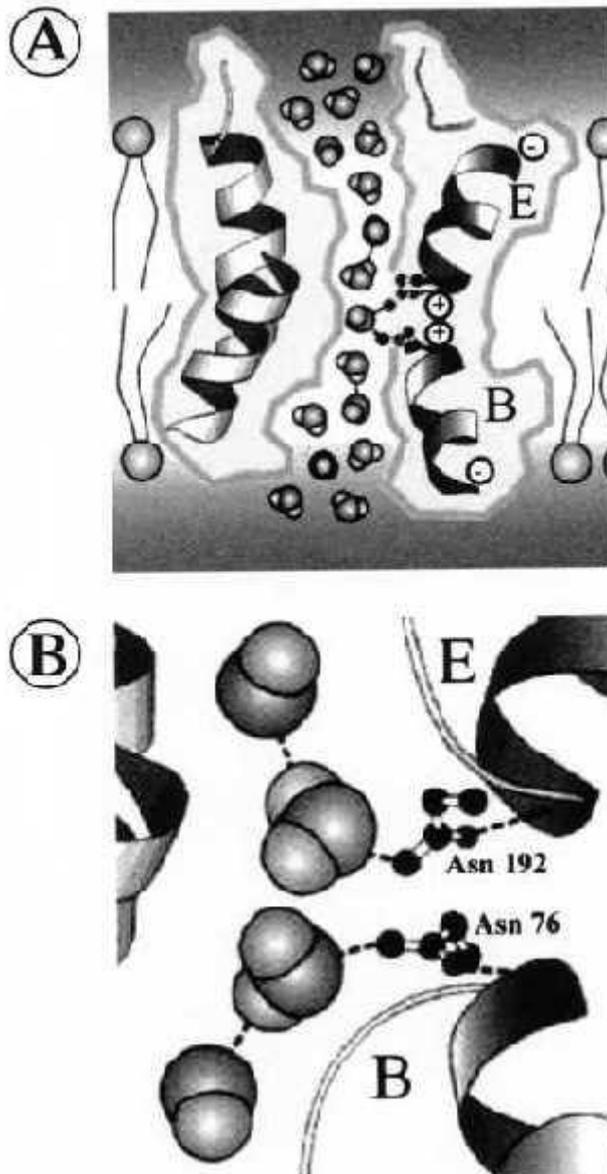


Figura 6: Esquema para explicar el mecanismo de exclusión de H^+ , Na^+ y K^+ por el filtro de selectividad, FS

(A) Perfil del FS. Se muestran las moléculas de agua dentro del canal (con el oxígeno y los dos hidrógenos) y las cargas de los dipolos de la hélices de las asas B y E. (B) Las aspartinas 76 (asa B) y 192 (asa E), al formar puentes de hidrógeno con los oxígenos de las moléculas de agua (que discurren en el interior del canal) extienden sus grupos amido dentro de la constricción del FS, restringiendo su permeabilidad y volviéndola específica, de modo que H^+ , Na^+ y K^+ pueden ser excluidos del FS y de AQP-1 [modificado de 23].

AQP-2 Y RIÑÓN

Hasta ahora se han descrito más de una decena de AQPs. En el nefrón^(21,24), se encuentra AQP-1 en el glomérulo y en el túbulo contorneado y parte recta del TRP, tanto en la membrana

luminal como en la peritubular, hasta la parte descendente del asa de Henle. La parte ascendente del asa de Henle no tiene AQP. Tampoco las tiene la membrana luminal del túbulo contorneado distal.

Las membranas apicales del túbulo conector (TCN) y del colector (TC) tienen AQP-2 (ver luego)⁽²⁶⁾. Hay AQP-3 y AQP-4 en las membranas peritubulares de TCN y TC^(3,4) y AQP-6 en las células principales de TCN y TC⁽¹⁸⁾.

La [Figura 7](#) esquematiza la localización y modo de acción de la hormona antidiurética (ADH) o vasopresina (VP) en las células principales del TC^(17,20,26). Cuando los niveles circulantes de ADH son bajos, la AQP-2 no está en la membrana apical de estas células sino que se encuentra concentrada en la membrana de vesículas subyacentes a la membrana apical. Por consiguiente la permeabilidad osmótica al agua (P_{os}) de la membrana celular apical es muy baja, porque el agua se mueve con lentitud pues debe atravesar la bicapa lipídica ya que no hay AQP-2 en esas circunstancias en la membrana apical. Por consiguiente los gradientes osmóticos que debieran favorecer pasaje de agua desde la luz tubular al interior celular son poco efectivos. Cuando se segrega ADH y ésta llega a los TC y se liga a su receptor, se estimula la cascada de AMP cíclico (cAMP), facilitando el movimiento de las vesículas que contienen AQP-2 hacia la membrana apical donde se adosan y abren, de modo que en estas circunstancias ya hay AQP-2 en la membrana apical. Esto confiere a esa membrana una altísima P_{os} . En estas circunstancias, hay suficiente AQP-2 en la misma membrana apical (y no sólo subyacente a la misma en las vesículas). Como consecuencia, P_{os} aumenta más de 100 veces el valor que tiene en ausencia de ADH, y los gradientes osmóticos resultan ahora en rápido paso de agua de la luz tubular al interior celular. El paso de agua desde el interior celular al espacio peritubular y a los capilares peritubulares se produce porque la membrana celular basolateral tiene AQP-3 y/o AQP-4.

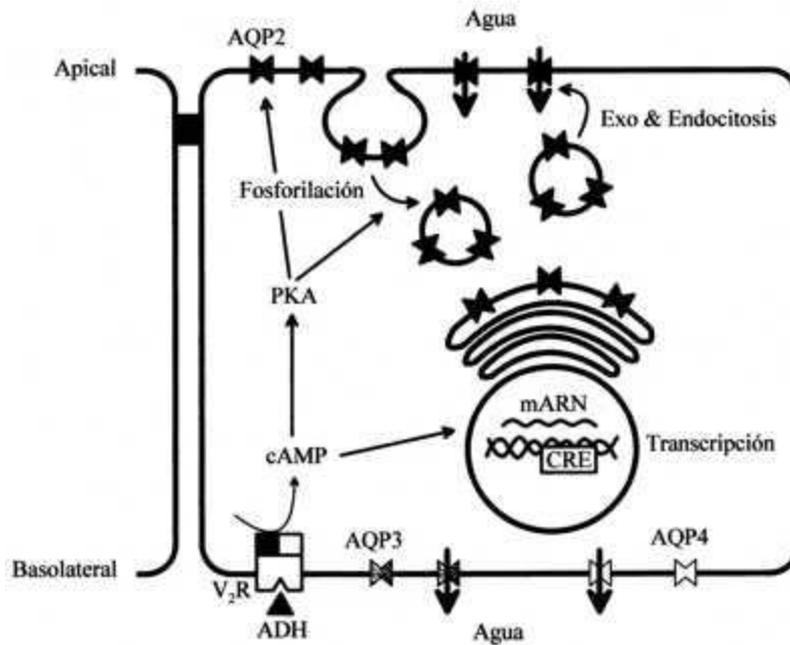


Figura 7: Esquema de una célula de túbulo colector (TC)

Muestra la acción de la hormona antidiurética (ADH) a través de AQP-2. La membrana celular basolateral tiene AQP-3 y/o AQP-4. Estímulos al núcleo pueden generar más AQPs durante los procesos de adaptación (ver texto). Modificada de(26).

Cuando los niveles de ADH vuelven a ser bajos, hay endocitosis y las moléculas de AQP-2 regresan al espacio sub-apical en vesículas. Este es el mecanismo que Wade describió hace unos 20 años, y que llamó el mecanismo de la lanzadera (shuttle)⁽²⁶⁾. Esta explicación de la acción del ADH por incorporación o desincorporación de moléculas de AQP-2 de características constantes a la membrana apical, corrige la visión de hace 40 años que proponía habían cambios en el diámetro de los canales de agua subsecuentes a la acción de la ADH⁽³⁸⁾.

TIPOS DE DIABETES INSÍPIDA (DI)

La [Fig. 7](#) también nos permite aclarar los diversos tipos de DI que se han descrito, fundamentalmente basados en estudios recientes de biología molecular. Desde hace mucho se conoce la DI hipofisaria que se presenta cuando la secreción de la ADH es insuficiente. Hay un modelo experimental de DI, que ha permitido considerables avances, en la raza especial de ratas Brattleboro⁽²⁶⁾ que genéticamente carecen de ADH.

Se conocen ahora varios grupos de DI renal. (a) En uno el receptor de ADH es defectuoso y no reconoce la ADH. Se presenta en grupos humanos en Canadá (Nueva Escocia), Estados Unidos (Salt Lake City, Utah), Francia y otros lugares, en los que se han descrito diversas fallas moleculares de origen genético en los receptores de ADH. (b) En otro fallan los mecanismos que producen el adosamiento de las microvesículas a la membrana apical. (c) Y en otro hay fallas genéticas en la molécula de AQP-2 que es impermeable al agua y por consiguiente no funciona como canal de agua⁽²⁶⁾.

Es posible que en el futuro se logren progresos diagnósticos que se basan en que las células de los túbulos renales se descaman a la orina. Sasaki y colaboradores⁽²⁶⁾ están tratando de implementar una prueba clínica en la que haciendo estudios de biología molecular (de AQPs y receptores de ADH) en las células descamadas en el sedimento urinario se pudieran diagnosticar diversas entidades patológicas relacionadas con defectos en las AQPs y DI.

ADAPTACIÓN DE LAS AQPS

Los trabajos de Echevarría y sus colaboradores describiendo la AQP-3 y su adaptación, pues AQP-3 y AQP4 se expresan en mayor cantidad en deshidratación crónica y menor en sobrehidratación^(4,5,26), abren todo un nuevo campo para explicar y estudiar la acción de las AQPs. También lo abren los recientes estudios con nuevos modelos de ratones (denominados ratones knock-out) que carecen en forma genéticamente inducida algunas de las AQPs⁽¹⁹⁾.

ANTIGÜEDAD DE LAS AQP

Estamos estudiando la posible existencia de AQPs en los túbulos de Malpighi del insecto hematófago *Rhodnius prolixus*. Entre paréntesis, este insecto es un reduvidio del grupo que transmite la enfermedad de Chagas. Nuestro interés en estos estudios se origina en el hecho que en éste y en otros insectos hematófagos la secreción de orina por los túbulos de Malpighi (TM) es muy grande y es súbitamente estimulada por hormonas. Nuestros estudios han mostrado la existencia en los TM de *Rhodnius* de una nueva AQP que denominamos Rp-MIP, que evolutivamente es muy antigua.

En la [Figura 8](#) se muestra un Dendrograma para ilustrar la antigüedad evolutiva de las AQPs, que se hace gráfica por la longitud de las líneas horizontales que denotan las AQPs y su cercanía al origen (en la izquierda del dendrograma). Las líneas cuyo origen está más cerca del lado izquierdo son las AQPs más antiguas. La más antigua es la Glicoforina (GlpF) de la bacteria *Echerichia coli*, algo menos antigua es la de las levaduras, un poco menos las de insectos. Nuestra Rp-MIP es aún más antigua que la de muchas plantas y que la de otros insectos. Mucho más recientes son las AQP humanas⁽⁵⁾. Esperamos que este estudio comparativo abra nuevos horizontes.

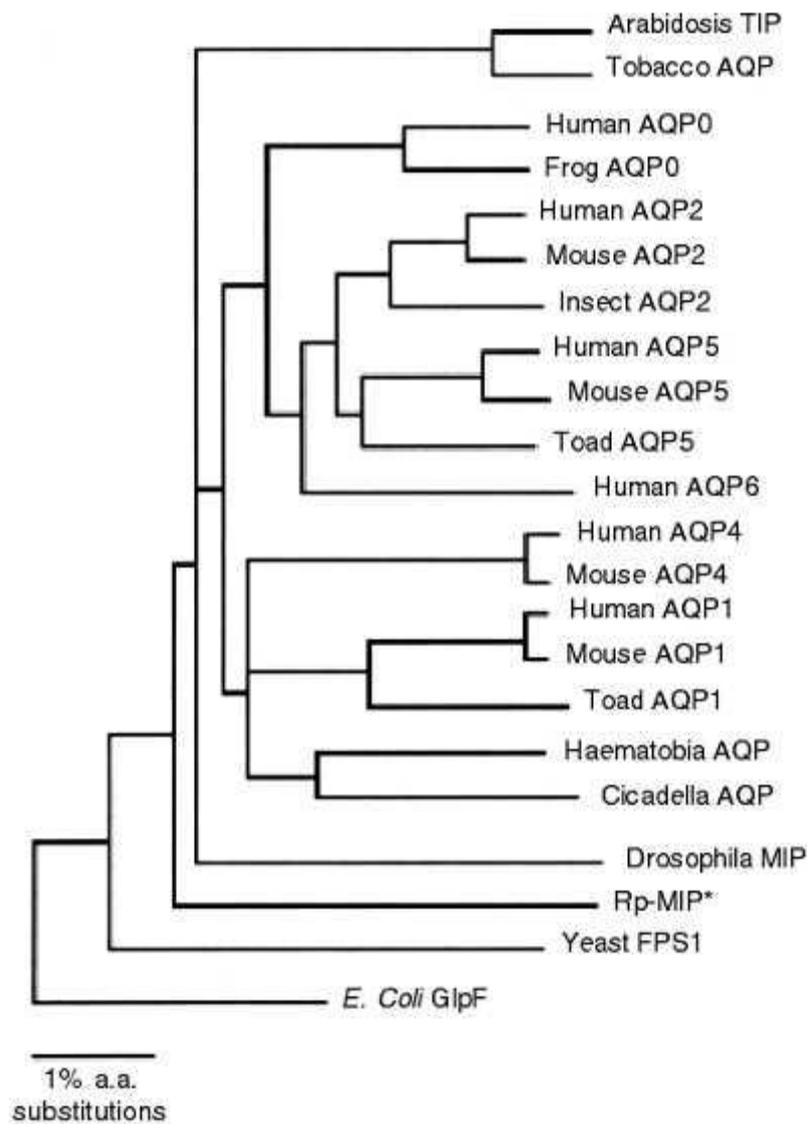


Figura 8: Dendrograma

El dendrograma ilustra la antigüedad evolutiva de las AQP's por cuán cerca están del origen (lado izquierdo) de las líneas horizontales que las denotan. Las líneas cuyo origen está más cerca de la izquierda corresponden a las AQP's más antiguas. La más antigua es la Glicoforina (GlpF) de la bacteria *E. coli*, algo menos la de levaduras, un poco menos la de insectos. Dentro de estas, nuestra Rp-MIP (de *Rhodnius prolixus*) es más antigua que la de otros insectos (mosca drosófila, cigarra) y que la de muchas plantas (*Arabidopsis*, tabaco). Más recientes son las AQP humanas. Tomada de(5).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carpi-Medina P, Lindemann B, González E, Whitttembury G: The continuous measurement of tubular volume changes in response to step changes in contraluminal osmolality. *Pflügers Arch.* 1984; 400: 343-348.
2. Davson H, Danielli JF: *The Permeability of Natural Membranes.* Cambridge University Press. 1952; pp 51-52.
3. Echevarría M, Frindt G, Preston G, Milovanovic S, Agre P, Fischbarg J, Windhager EE: Expression of multiple water channels activities in *Xenopus* oocytes injected with mRNA from rat kidney. *J. Gen. Physiol.* 1993; 101: 827-841.
4. Echevarria M, Windhager EE, Tate SS, Frindt G: Cloning and expression of AQP-3 a water channel from the medullary collecting duct of rat kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 10997-11001.
5. Echevarría M, Ramírez-Lorca R, Hernández CS, Gutiérrez AM, Méndez-Ferrer S, González E, Toledo-Aral JJ, Ilundáin AA, Whitttembury G: Identification of a new water channel (RP-mip) in the malpighian tubules of the insect *Rhodniusprolixus*. *Pflügers Arch.* 2001; 383: 165-171.
6. Farmer RE, Macey RI: Inhibition of water and solute permeability in human red cells. *Biochim. Biophys. Acta.*1970; 211: 104-106.
7. Finkelstein, A. (1987). *Water movement through lipid bilayers, pores and plasma membranes. Theory and reality.* New York: John Wiley & Sons.
8. Goldstein DA, Solomon AK: Determination of equivalent pore radius for human red cells by osmotic pressure measurements. *J. Gen. Physiol.* 1960; 44: 1-17.
9. González E, Carpi-Medina, P, Linares H, & Whitttembury, G: Water osmotic permeability of the apical membrane of proximal straight tubular (PST) cells. *Pflügers Arch.* 1984; 402: 337-339.
10. Gutiérrez AM, González E, Echevarría M, Hernández CS, Whitttembury G: The Proximal Straight Tubule (PST) Basolateral Cell Membrane Water Channel: Selectivity Characteristics. *J. Membr. Biol.* 1995; 143: 189-197.
11. Heckmann K: Zur Theorie der "Single file diffusion" II. *Phys. Chem.* 1965; 46: 1-25.
12. Hill AE: Osmosis. *Qt. Rev. Biophys.* 1979; 12: 67-99.
13. Hill AE: Osmotic flow in Membrane Pores of Molecular Size. *J Membrane Biol* 1994; 137: 197-203.

14. Hill AE: Osmotic flow in Membrane Pores. *International Review of Cytology*, 1995; 163: 1-42.
15. Hille, B: *Ionic channels of excitable membranes*. Sinauer Associates, Sunderland. MA. 2001.
16. House CR., (1974) *Water Transport in Cells and Tissues*. Edward Arnold, London.
17. Ibarra C, Ripoche P, Parisi M, & Bourguet J: Effects of mercurial compounds on net water transport and intramembrane particle aggregates in ADH-treated frog urinary bladder. *J. Membr. Biol.* 1989; 116: 57-64.
18. King LS, Agre P: Pathophysiology of the Aquaporin water channels. *Annu. Rev. Physiol.* 1996; 58: 619-648.
19. King LS, Choi M, Fernández PC, Cartron JP, Agre P: Defective urinary-concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin. *N Engl. J. Med.* 2001; 345: 175-179.
20. Kondo Y, Imai M: Effects of glutaraldehyde fixation on renal tubular function. I. Preservation of vasopressin-stimulated water and urea pathways in rat papillary collecting duct. *Pflügers Arch.* 1987; 408: 479-483.
21. Kriz W, Kaissling B: Structural organization of the mammalian kidney. In: Seldin DW, Giebisch G (eds) *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, Raven Press, New York. 1992; pp 707-777.
22. Mauro, A: Nature of solvent transfer in osmosis. *Science* 1957; 126: 252-253.
23. Murata K, Mitsuoka K, Hirai T, Walz T, Agre P, Heynman JD, Engel A, Fushiyoshi Y: Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature* 2000; 407: 599-605.
24. Nielsen SB, Smith L, Christensen EI, Knepper MA, Agre P: CHIP28 water channels are localized in constitutively water-permeable segments of the nephron. *J. Cell Biol.* 1993; 120: 371-383.
25. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P: Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 1992; 256: 385-387.
26. Sasaki S, Ishibashi K, Marumo F: Aquaporin-2 and -3: representatives of two subgroups of the aquaporin family co-localized in the kidney collecting duct. *Annu. Rev. Physiol.* 1999; 60: 199-220.
27. Saparov SM, Kozono D, Rothe U, Agre P, Pohl P: Water and ion permeation of aquaporin-1 in planar lipid bilayers. Major different structural determinants and stoichiometry. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 31515-31520.
28. Solomon AK: Characterization of biological membranes by equivalent pores. *J Gen Physiol* 1968; 51: 336s-364s.
29. Solomon AK: On the equivalent pore radius. *J. Membr. Biol.* 1986; 94: 227-232.

30. Verkman AS, Shi L, Frigeri A, Hasegawa H, Farinas J, Mitra A, Brown D, van Hoek AN, Ma T: Structure and function of kidney water channels. *Kidney Int* 1995; 48: 1069-1081.
31. Vieira FL, Scha'afi, RI, Solomon AK: The state of water in human and dog red cell membranes. *J. Gen. Physiol.* 1970; 55: 451-466.
32. Whittembury G, Carpi-Medina P, Gonzalez E, Linares H: Effect of para-chloromercuribenzensulfonic acid and temperature on cell water osmotic permeability of proximal straight tubules. *Biochim. Biophys. Acta* 1984; 775: 365-373.
33. Whittembury G, González E, Gutiérrez AM, Echevarría M, Hernández CS: Length of the selectivity filter of aquaporin-1. *Biology of the Cell* 1997; 89: 299-306.
34. Whittembury G, González E, Hernández CS, Gutiérrez AM, Echevarría M: Transport of water in proximal kidney tubules. From whole tubules to single channels: length and section of the selectivity filter of aquaporin-1. *Wien Klin. Wochenschr.* 1997; 109: 477-484.
35. Whittembury G, Lindemann B, Carpi-Medina P, González E, Linares H: Continuous measurements of cell volume changes in single kidney tubules. *Kidney Int.* 1986; 30: 187-191.
36. Whittembury G, Reuss L: Mechanisms of coupling of solute and solvent transport in epithelia. In: Seldin DW, Giebisch G, (eds) *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, 2nd edition. Raven Press, New York. 1992. Chapter 13th, pp. 317-360.
37. Whittembury G, Hill A: Coupled transport of water and solutes across epithelia. En: Seldin DW, Giebisch G, (eds) *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, 3rd. edition. Raven Press, New York, 2000. Chapter 14th, pp.317-360.
38. Whittembury G, Sugino N, Solomon AK: Effect of antidiuretic hormone and calcium on the equivalent pore radius of kidney slices from *Necturus*. *Nature* 1960; 187: 699-703.